



VIA MEDICA

www.fr.viamedica.pl

Cezary Iwaszkiewicz¹, Piotr Leszczyński^{1,2}¹Department of Rheumatology and Osteoporosis, Jozef Strus Municipal Hospital in Poznan²Laboratory of Metabolic Bone and Connective Tissue Diseases, Department of Rheumatology and Rehabilitation, Poznan University of Medical Sciences

Serological markers in the diagnosis of rheumatoid arthritis — a clinician's perspective

ABSTRACT

The paper summarises the present knowledge of the role of autoantibodies in the diagnosis of rheumatoid arthritis. The starting point were the current rheumatoid arthritis classification criteria. The first part presents the diagnostic features of rheumatoid factor and anti-citrullinated protein/peptide antibodies, while the second part provides the answers to the

essential clinical questions related to their use. This article, as opposed to more comprehensive papers in the field of immunology, focuses on daily rheumatological practice.

Forum Reumatol. 2018, tom 4, nr 3: 169–177

Key words: rheumatoid arthritis; anti-citrullinated protein antibodies; ACPA; anti-cyclic citrullinated peptide antibodies; anti-CCP; aCCP; rheumatoid factor; RF

INTRODUCTION

Rheumatoid arthritis (RA) is the most common systemic connective tissue disease, which leads to progressive joint damage and the development of organ lesions. The objective of RA treatment is to cause the remission of the disease before any irreversible changes occur, which requires an early RA diagnosis and the administration of disease-modifying antirheumatic drugs. Given a heterogeneous clinical picture and an insidious onset of RA, meeting the aforementioned requirements poses a challenge [1, 2].

Laboratory tests provide support for making clinical decisions in rheumatology. They make it possible to evaluate the activity of and diagnose numerous diseases; sometimes, they are of prognostic or predictive importance. Even though laboratory diagnostics has been developing, the basic methods still include complete blood count, inflammatory and biochemical markers, and urinalysis. Serological tests constitute a valuable auxiliary tool: but only in the hands of

a well-prepared physician. Otherwise, they become a source of confusion, unnecessary expenses and patients' anxiety. It should be emphasised that the mere detection of autoantibodies does not determine the disease diagnosis and the selection of tests should closely correspond to a clinical hypothesis [3, 4].

The objective of the paper is to summarise the present knowledge on the role of serological markers in the diagnosis of RA. Due to space limitations, the prognostic and predictive properties of autoantibodies were not analysed. Those will be discussed in another review.

RHEUMATOID FACTOR (RF)

The oldest serological marker of RA is **rheumatoid factor** (RF), i.e. a heterogeneous group of autoantibodies against the Fc portion of human immunoglobulin G [5]. Although the RF group includes all isotypes, only RF IgM has been widely used [6]. Therefore, it is RF IgM that will be discussed in this paper. Up to 2010, RF had been the only autoantibody

Adres do korespondencji:
Piotr Leszczyński M.D., Ph.D.
Department of Rheumatology
and Rehabilitation
at Poznan University
of Medical Sciences
e-mail: piotr_leszczyński@wp.pl

that was considered in the classification criteria for RA [7]. In the advanced stage of the disease, its diagnostic sensitivity is 85%. The remaining 15% of cases concern the so-called **seronegative RA**, though this term is becoming less relevant in the light of new discoveries of autoantibodies [8, 9]. RF synthesis may precede the symptoms of RA by as many as 11 years, while the percentage of RF-positive results are estimated at 19–57% in the preclinical period [10–13]. In these cases, the median period between the detection of seroconversion and the disease onset is between 2–4 years [11–13]. In **very early RA**, i.e. within less than 3 months after the onset of symptoms, the RF-positive result is found in 45% of patients [14]. Even up to 3 years from the disease onset the diagnostic sensitivity of the marker does not exceed 63% [15]. Treatment decisions that are made at the beginning of the disease condition the further course of the disease and the effectiveness of treatment; therefore, the role of RF as a marker of RA is very limited [2]. Another limitation of RF is its diagnostic specificity, which is low and depends greatly on the subject population. The diagnostic specificity ranges widely from 31 to 99%, which reflects a common and heterogeneous presence of RF in rheumatic, infectious, neoplastic and other diseases [16]. RF-positive results are also found in healthy people, with the incidence increasing with age. Table 1 summarises the occurrence of RF in different clinical groups.

ANTI-CITRULLINATED PROTEIN/PEPTIDE ANTIBODIES (ACPAS)

Anti-citrullinated protein/peptide antibodies (ACPA) are a newer marker of RA.

Citrullination is a post-translational modification of proteins or peptides, in which arginine residues are deiminated to citrulline residues (Fig. 1). The peptidylarginine deiminase (PAD), which catalyses citrullination, is located inside various cells. For PAD to be activated, the concentration of Ca^{2+} ions has to increase 100 times. Through the inflow of Ca^{2+} ions from the extracellular space and their outflow from intracellular stores, such shifts take place during apoptosis and necrosis. A sudden death of a large number of cells hinders the phagocytosis of their fragments. As a result, PAD may be activated and proteins or peptides rich in arginine may be citrullinated. This scenario has been observed in various inflamed tissues — regardless of the triggering

Table 1. Presence of RF in different clinical groups [17–22]

| Population | Percentage (%) |
|----------------------------------|----------------|
| Healthy persons | |
| Age of 70 | 10–25 |
| Age of 50 | 5 |
| Age of below 50 | ≤ 4 |
| Connective tissue diseases | |
| Rheumatoid arthritis | 70–90 |
| Sjögren's syndrome | 75–95 |
| Mixed connective tissue disease | 50–60 |
| ANCA-associated vasculitis | 26–62 |
| Systemic sclerosis | 20–30 |
| Systemic lupus erythematosus | 15–35 |
| Polymyositis/dermatomyositis | 20 |
| Juvenile idiopathic arthritis | 5 |
| Spondyloarthropathies | |
| Psoriatic arthritis | 5–13 |
| Reactive arthritis | < 5 |
| Bacterial infections | |
| Subacute pericarditis | 40 |
| Tuberculosis | 15–62 |
| Syphilis | 8–37 |
| Viral infections | |
| HCV | 10–76 |
| HBV | 18–43 |
| Herpes | 10–15 |
| HIV | 10–20 |
| Parasitic diseases | |
| Malaria | 15–18 |
| Toxoplasmosis | 10–12 |
| Other | |
| Type II mixed cryoglobulinaemia* | 100 |
| Sarcoidosis | 5–30 |
| Primary biliary cirrhosis | 45–70 |
| Cirrhosis — different aetiology | 25 |
| Neoplasms | 5–25 |

*Monoclonal IgM with rheumatoid factor activity; ANCA — anti-neutrophil cytoplasmic antibody; HCV — hepatitis C virus; HBV — hepatitis B virus; HIV — human immunodeficiency virus

factor. Since the presence of citrullinated proteins is common, the specificity of ACPA for RA is not caused by citrullination itself, but by the tendency of patients to produce autoantibodies against citrullinated proteins. This tendency is considered to be the outcome of individual genetic and environmental factors [23]. Of course, the production of ACPA or other autoantibodies is not enough for the disease to

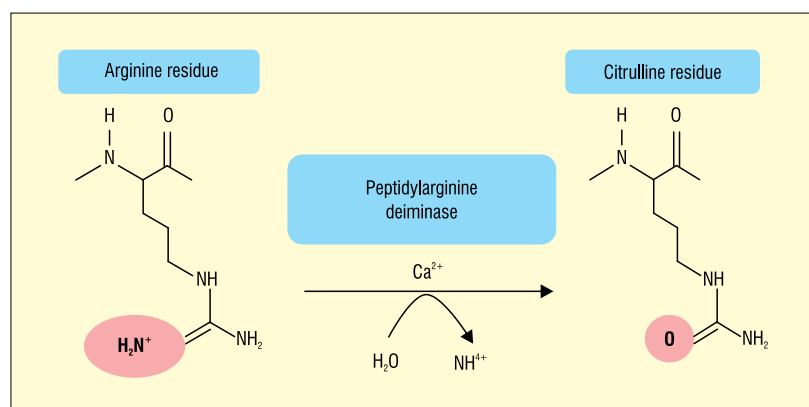


Figure 1. Citrullination — the loss of positive charge affects intermolecular and intramolecular interactions, which can result in new antigenic properties

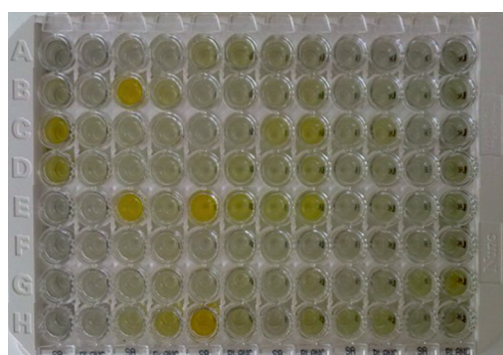


Figure 2. Microplate for antibody determination using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

develop. The majority of persons who produce autoantibodies do not suffer from the diseases related to them [24].

ACPA are usually determined using immunoenzymatic assays with cyclic citrullinated peptides as an antigen (Fig. 2). Due to numerous and well-exposed citrulline residues, these synthetic molecules make it possible to capture ACPA from the test sample. The term “**anti-cyclic citrullinated peptide autoantibodies**” (anti-CCP) is derived from the laboratory assay. However, it should be noted that the CCP antigen is not present *in vivo* and the assays based on it are used to determine all ACPA in a test sample collectively. These antibodies detect specific citrullinated proteins or peptides but they may demonstrate a various degree of cross-reactivity. Consequently, every patient with a positive anti-CCP result has a very own set of ACPA antigenic specificities, which is referred to as an **ACPA profile** [26, 27]. The list of citrullinated antigens with a possible role in the pathogenesis of RA continues to expand. Better known citrullinated antigens include fibrin, vimentin, fibronectin, alpha-

-enolase, type I and II collagen, histones, Epstein-Barr virus nuclear antigen 1 [23]. According to present knowledge, the ACPA response “matures” in terms of antigenic specificity and isotype usage at the preclinical phase and stabilizes after RA onset [28–30]. In other words, ACPA profiles of particular RA patients are relatively conservative. A certain analogy with antinuclear antibodies (ANA) inspired the hypothesis that the ACPA profile may provide information of significant clinical importance. Therefore, its advocates compared the anti-CCP test to the detection of ANA by immunofluorescence, as well as the determination of particular ACPA to the ANA profile [31]. Even though research has been conducted for several years, there is still no evidence that the knowledge of an individual ACPA profile has any clinical benefits [32, 33].

As already mentioned, the anti-CCP assay makes it possible to determine all ACPA in a test sample collectively and, as such, is a measure of the severity of the autoimmune response to citrullinated antigens. The diagnostic sensitivity of anti-CCP autoantibodies is 72%, which, to be exact, amounts to 75% in the advanced RA stage and 62% in the early RA stage. The boundary between these stages was established arbitrarily and was usually 12–24 months from the onset of symptoms. In very early RA, anti-CCP antibodies are present in only 41% of patients [14]. The main advantage of anti-CCP autoantibodies is a high diagnostic specificity, which is 99% for healthy persons and 94% for patients with rheumatic diseases other than RA [34, 35]. This means that the percentage of anti-CCP-positive results in healthy persons is 1%, while it is slightly higher — 6% — for patients with diseases that “resemble” RA. Table 2 summarises the distribution of anti-CCP-positive results in va-

Table 2. Presence of anti-CCP autoantibodies in various clinical groups [19, 22, 35–54]

| Population | Percentage (%) |
|------------------------------------|----------------|
| Healthy persons | 1 |
| Rheumatic diseases other than RA | 6 |
| Connective tissue diseases | |
| Rheumatoid arthritis | 62–75 |
| Sjögren's syndrome | 5–10 |
| Mixed connective tissue disease | 11–16 |
| Systemic sclerosis | 9 |
| Systemic lupus erythematosus | 7–17 |
| Polymyositis/dermatomyositis | 13 |
| Juvenile idiopathic arthritis | 2–42 (10)* |
| Spondyloarthropathies | |
| Psoriatic arthritis | 8–16 |
| Ankylosing spondylitis | 4 |
| Bacterial infections | |
| Pulmonary tuberculosis | 32–37 |
| Viral infections | |
| HCV | 0–33 |
| HBV | 0–20 |
| HIV | 8–15 |
| Liver diseases | |
| Primary biliary cirrhosis | 3–6 |
| Autoimmune hepatitis | 9–10 |
| Other | |
| Familial Mediterranean fever | 14 |
| Brucellosis with joint involvement | 20 |

*A wide range of results reflects the clinical and laboratory heterogeneity of JIA. The value from the only available meta-analysis is given in parentheses [42]; HCV — hepatitis C virus; HBV — hepatitis B virus; HIV — human immunodeficiency virus.

rious clinical groups. The ACPA synthesis may precede RA by as many as 14 years, which is slightly more than it was in the case of RF. The percentage of anti-CCP-positive results in the preclinical period is between 34–61% [10–13]. In these cases, the median period between the detection of seroconversion and the disease onset is between 3–5 years [11–13].

Apart from the anti-CCP assay, there are also assays to determine autoantibodies against specific citrullinated proteins. There were high hopes for antibodies against citrullinated vimentin — Sa autoantigen [31]. The first Polish study — and the only one so far — did not reveal any benefits associated with the inclusion of anti-Sa autoantibodies in the diagnosis of RA [55]. The prognostic and predictive properties of this marker remain separate issues.

CLASSIFICATION CRITERIA FOR RA

In 2010, thanks to the joint effort by the American College of Rheumatology (ACR) and the European League Against Rheumatism (EULAR), new classification criteria for RA were announced [7]. They replaced 23-years-old American classification criteria, which demonstrated a lower sensitivity in the early stage of the disease. One may say that the current classification algorithm focuses on such features of early undifferentiated arthritis that predispose patients to develop full-blown RA. The criteria are based on four variables named **categories** (Table 3). They include the number and size of involved joints, the results of serological markers, the results of acute-phase reactants and the duration of symptoms. The document concerns two serological markers — RF and ACPA; however, neither is distinguished over the other. Values of autoantibodies are considered in relation to the upper limit of normal (ULN) for the laboratory and assay. **The negative result** refers to values that are less than or equal to the ULN; **the low-positive result** refers to values that are higher than the ULN but three or less times the ULN; and **the high-positive result** denotes values that are more than three times the ULN. If a qualitative assay was used to assess RF, every positive result is considered a low-positive result. The authors did not take a stand on the assay that should be used to assess ACPA but pointed out that the anti-CCP assay is typically used. It should be noted that autoantibodies are the second highest scoring category following joint involvement.

WHAT PERCENTAGE OF ANTI-CCP-POSITIVE INDIVIDUALS ACTUALLY SUFFER FROM RA?

The answer is a positive predictive value of the assay, which amounts to 93–97%. Unfortunately, as already mentioned, the positive anti-CCP results are not observed in 1/3 patients with RA [56].

RF AND ACPA — SHOULD THEY BE TESTED COLLECTIVELY OR SHOULD EITHER OF THEM BE SELECTED?

According to the 2010 ACR/EULAR criteria, it is sufficient to test one of the mentioned autoantibodies, while both markers are

Table 3. 2010 classification criteria for RA acc. to the ACR/EULAR [7]

| | |
|---|---|
| Prerequisite: definite clinical synovitis in at least one joint (swelling) — with the synovitis not better explained by another disease. Differential diagnosis remain the responsibility of the physician. | |
| The score of categories A–D should be added together. A total of at least 6 is needed for classification of a patient as having definite RA. | |
| Patients with longstanding disease (irrespective of activity or treatment) and patients with typical erosions are classified as having definite RA if they have previously fulfilled the 2010 criteria based on retrospectively available data. | |
| A. Number and size of the involved joints: | |
| 1 large | 0 |
| 2–10 large | 1 |
| 1–3 small (with or without large joint involvement) | 2 |
| 4–10 small (with or without large joint involvement) | 3 |
| > 10 (including at least 1 small joint) | 5 |
| B. Serological markers (the result of at least either of them) | |
| Negative RF and ACPA | 0 |
| Low-positive RF or ACPA | 2 |
| High-positive RF or ACPA | 3 |
| C. Acute-phase reactants (the result of at least either of them) | |
| Normal CRP and ESR value | 0 |
| Abnormal CRP or ESR value | 1 |
| D. Duration of symptoms | |
| < 6 weeks | 0 |
| ≥ 6 weeks | 1 |

ACPA — anti-citrullinated protein/peptide antibodies; ACR — American College of Rheumatology; CRP — C-reactive protein; ESR — erythrocyte sedimentation rate; EULAR — European League Against Rheumatism; RF — rheumatoid factor; RA — rheumatoid arthritis

regarded as alternative. A clue may be given by the authors' opinion that in RF-positive patients, the anti-CCP assessment will not provide any additional information — at least in respect of the classification of a disease as RA. On the other hand, in new draft guidelines being prepared by the National Institute for Health and Care Excellence (NICE), there is a direct indication that RF should be determined first and when the result is negative, the determination of anti-CCP should be considered. However, it was stressed that it is necessary to assess anti-CCP in all patients with newly diagnosed RA. This results from the prognostic and predictive properties of this marker, which are irrelevant in terms of the diagnosis itself, but crucial when it comes to further patient's care [57]. Given the current data and specific Polish conditions, it is beneficial to assess both RF and anti-CCP in patients with clinically suspected RA. If it is necessary to choose either of them, it is probably better to start with RF as it has a higher diagnostic sensitivity and its price is lower. However, the diagnosis of RA makes it obligatory to determine anti-CCP immediately.

RF AND ACPA — SHOULD THEY BE REPEATED IF THE RESULT IS NEGATIVE?

While on the subject of the RA diagnosis, we in fact refer to patients with undifferentiated arthritis. In this group, the percentage of anti-CCP-negative results with subsequent seroconversion to a positive value is 1.3–8.9%, while the percentage of seroconversion among RF-negative results is 1.9–10.0%. These observations were conducted for up to 5 years. The aforementioned data result from a different look at both markers — irrespective of their coexistence. Meanwhile, it was proven that the risk factor of the change from the RF-negative result to a positive one is the initial presence of anti-CCP, while the risk factor of the change from the anti-CCP-negative result to a positive one is the initial presence of RF. Perhaps that is why in the double-seronegative group, which is a true diagnostic issue, the percentage of seroconversion to anti-CCP-positive results is only 1.5% and it is 6.7% to RF-positive results. According to present scientific knowledge, the routine reassessment of RF or anti-CCP status is not justified in patients with

undifferentiated arthritis with negative RF and/or anti-CCP results [58, 59].

DOES THE GENERATION OF THE ANTI-CCP ASSAY MATTER?

Depending on the structure of CCP used, three generations of assays to measure anti-CCP autoantibodies are distinguished. In the first generation, CCP1 molecules were derived from human filaggrin. The second generation features more complex and synthetic CCP2 molecules. These molecules were designed by combining millions of peptides with sera from RA patients, which revealed epitopes of significant clinical importance. As a result, the diagnostic sensitivity of the marker was increased without affecting its specificity. The latest assay — the third generation — includes CCP3 peptides, which have been obtained with the use of combinatorial biochemistry to achieve a better exposure of epitopes. The majority of papers have not confirmed the superiority of the CCP3 assay over the CCP2 assay as yet. The CCP2 assay is still the most frequently used and best documented technique to measure ACPA; therefore, all data cited in this paper concern the second-generation assay [60–62].

MAY THE IMPACT OF THE LABORATORY OR THE PRODUCER OF THE ASSAY ON THE ANTI-CCP RESULT BE SIGNIFICANT?

Even though the standardisation of anti-CCP determination is definitely better than that of RF, the results achieved in different assays or laboratories may vary significantly. The main factors that affect the results of serological assays include the general analytical technique

(its type and automation degree), the composition and quality of the reagents, the structure and properties of the binding antigen, physical conditions of the surroundings, the assumed value of the ULN and the correctness of the test performance. There are documented cases in which the diagnostic concordance of two different CCP2 assays was only 60% [23, 62, 63].

IS THE HIGH-POSITIVE ANTI-CCP RESULT PATHGNOMONIC FOR RA?

A higher value of anti-CCP reduces the risk of a false positive result but does not eliminate it entirely. High-positive results were observed in the course of various diseases, which included e.g. tuberculosis, autoimmune hepatitis or spondyloarthropathies. Their significance is still unclear [19, 48, 64]. This is the main reason why serological tests should be administered individually, based on the medical history and physical examination, and why positive results of such tests — even if they are very high — are not pathognomonic for RA. **From the rheumatological point of view, the patient does not suffer from laboratory test results but from a disease — defined as a specific clinical picture.**

CONCLUSIONS

Serological markers are a valuable tool to support a differential diagnosis of arthritis, including, most of all, rheumatoid arthritis. The awareness of their basic qualities and, at the same time, numerous limitations may not only facilitate and accelerate a proper diagnosis of RA, but also decrease the overdiagnosis of this disease. Both aspects have a profound impact on the safety and quality of life of our patients.

REFERENCES

1. Kourilovitch M, Galarza-Maldonado C, Ortiz-Prado E. Diagnosis and classification of rheumatoid arthritis. *J Autoimmun.* 2014; 48-49: 26–30, doi: [10.1016/j.jaut.2014.01.027](https://doi.org/10.1016/j.jaut.2014.01.027), indexed in Pubmed: [24568777](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24568777/).
2. Smolen JS, Landewe R, Bijlsma J, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2016 update. *Ann Rheum Dis.* 2017; 76(6): 960–977, doi: [10.1136/annrheumdis-2016-210715](https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2016-210715), indexed in Pubmed: [28264816](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28264816/).
3. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 125(2 Suppl 2): S238–S247, doi: [10.1016/j.jaci.2009.09.041](https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.09.041), indexed in Pubmed: [20061009](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20061009/).
4. Bonaguri C, Melegari A, Ballabio A, et al. Italian multi-centre study for application of a diagnostic algorithm in autoantibody testing for autoimmune rheumatic disease: conclusive results. *Autoimmun Rev.* 2011; 11(1): 1–5, doi: [10.1016/j.autrev.2011.06.006](https://doi.org/10.1016/j.autrev.2011.06.006), indexed in Pubmed: [21741498](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21741498/).
5. Newkirk MM. Rheumatoid factors: what do they tell us? *J Rheumatol.* 2002; 29(10): 2034–2040, indexed in Pubmed: [12375308](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12375308/).
6. Nowak U, Gill K, Skamene E, et al. Rheumatoid factor induction in murine models of liver injury. *Clin Exp Immunol.* 2007; 147(2): 324–329, doi: [10.1111/j.1365-2249.2006.03277.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2006.03277.x), indexed in Pubmed: [17223974](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17223974/).
7. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis.* 2010; 69(9): 1580–1588, doi: [10.1136/ard.2010.138461](https://doi.org/10.1136/ard.2010.138461), indexed in Pubmed: [20699241](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20699241/).
8. Deane KD. Preclinical rheumatoid arthritis (autoantibodies): an updated review. *Curr Rheumatol Rep.* 2014; 16(5): 419,

- doi: [10.1007/s11926-014-0419-6](https://doi.org/10.1007/s11926-014-0419-6), indexed in Pubmed: [24643396](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24643396/).
9. Karimifar M, Moussavi H, Babaei M, et al. The association of immunoglobulin G and anti-cyclic citrullinated peptide antibodies with disease activity in seronegative rheumatoid arthritis patients. *J Res Med Sci*. 2014; 19(9): 823–826, indexed in Pubmed: [25535495](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25535495/).
10. Rantapää-Dahlqvist S, de Jong BAW, Berglin E, et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2003; 48(10): 2741–2749, doi: [10.1002/art.11223](https://doi.org/10.1002/art.11223), indexed in Pubmed: [14558078](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14558078/).
11. Nielen MMJ, van Schaardenburg D, Reesink HW, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum*. 2004; 50(2): 380–386, doi: [10.1002/art.20018](https://doi.org/10.1002/art.20018), indexed in Pubmed: [14872479](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14872479/).
12. Majka DS, Deane KD, Parrish LA, et al. Duration of preclinical rheumatoid arthritis-related autoantibody positivity increases in subjects with older age at time of disease diagnosis. *Ann Rheum Dis*. 2008; 67(6): 801–807, doi: [10.1136/ard.2007.076679](https://doi.org/10.1136/ard.2007.076679), indexed in Pubmed: [17974596](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17974596/).
13. Kolfenbach JR, Deane KD, Derber LA, et al. Autoimmunity to peptidyl arginine deiminase type 4 precedes clinical onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2010; 62(9): 2633–2639, doi: [10.1002/art.27570](https://doi.org/10.1002/art.27570), indexed in Pubmed: [20496417](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20496417/).
14. Nell-Duxneuner V, Machold K, Stamm T, et al. Autoantibody profiling in patients with very early rheumatoid arthritis: a follow-up study. *Ann Rheum Dis*. 2010; 69(1): 169–174, doi: [10.1136/ard.2008.100677](https://doi.org/10.1136/ard.2008.100677), indexed in Pubmed: [19153104](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19153104/).
15. Carpenter L, Norton S, Nikiforou E, et al. Early Rheumatoid Arthritis Study and the Early Rheumatoid Arthritis Network. Reductions in Radiographic Progression in Early Rheumatoid Arthritis Over Twenty-Five Years: Changing Contribution From Rheumatoid Factor in Two Multicenter UK Inception Cohorts. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2017; 69(12): 1809–1817, doi: [10.1002/acr.23217](https://doi.org/10.1002/acr.23217), indexed in Pubmed: [28217885](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28217885/).
16. Nishimura K, Sugiyama D, Kogata Y, et al. Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med*. 2007; 146(11): 797–808, indexed in Pubmed: [17548411](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17548411/).
17. Watanabe S, Gono T, Nishina K, et al. Rheumatoid factor is correlated with disease activity and inflammatory markers in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *BMC Immunol*. 2017; 18(1): 53, doi: [10.1186/s12865-017-0234-8](https://doi.org/10.1186/s12865-017-0234-8), indexed in Pubmed: [29262790](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29262790/).
18. Punzi L, Podswiadek M, Oliviero F, et al. Laboratory findings in psoriatic arthritis. *Reumatismo*. 2007; 59 Suppl 1: 52–55, indexed in Pubmed: [17828345](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17828345/).
19. Elkayam O, Segal R, Lidgi M, et al. Positive anti-cyclic citrullinated proteins and rheumatoid factor during active lung tuberculosis. *Ann Rheum Dis*. 2006; 65(8): 1110–1112, doi: [10.1136/ard.2005.045229](https://doi.org/10.1136/ard.2005.045229), indexed in Pubmed: [16361276](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16361276/).
20. Schattner A, Shani A, Talpaz M, et al. Rheumatoid factors in the sera of patient with gastrointestinal carcinoma. *Cancer*. 1983; 52(11): 2156–2161, indexed in Pubmed: [6605189](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6605189/).
21. Ingegnoli F, Castelli R, Gualtierotti R. Rheumatoid factors: clinical applications. *Dis Markers*. 2013; 35(6): 727–734, doi: [10.1155/2013/726598](https://doi.org/10.1155/2013/726598), indexed in Pubmed: [24324289](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24324289/).
22. Zengin O, Yıldız H, Demir ZH, et al. Rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) antibodies with hepatitis B and hepatitis C infection: Review. *Adv Clin Exp Med*. 2017; 26(6): 987–990, indexed in Pubmed: [29068601](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29068601/).
23. Puszczewicz M, Iwaszkiewicz C. Role of anti-citrullinated protein antibodies in diagnosis and prognosis of rheumatoid arthritis. *Arch Med Sci*. 2011; 7(2): 189–194, doi: [10.5114/aoms.2011.22067](https://doi.org/10.5114/aoms.2011.22067), indexed in Pubmed: [22291756](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22291756/).
24. Ludwig RJ, Vanhoorelbeke K, Leypoldt F, et al. Mechanisms of Autoantibody-Induced Pathology. *Front Immunol*. 2017; 8: 603, doi: [10.3389/fimmu.2017.00603](https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00603), indexed in Pubmed: [28620373](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28620373/).
25. Infantino M, Manfredi M, Meacci F, et al. Anti-citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor isotypes in the diagnosis of rheumatoid arthritis: an assessment of combined tests. *Clin Chim Acta*. 2014; 436: 237–242, doi: [10.1016/j.cca.2014.05.019](https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.05.019), indexed in Pubmed: [24892812](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24892812/).
26. Ioan-Facsinay A, el-Bannoudi H, Scherer HU, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies are a collection of anti-citrullinated protein antibodies and contain overlapping and non-overlapping reactivities. *Ann Rheum Dis*. 2011; 70(1): 188–193, doi: [10.1136/ard.2010.131102](https://doi.org/10.1136/ard.2010.131102), indexed in Pubmed: [20736390](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20736390/).
27. Goules JD, Goules AV, Tzioufas AG. Fine specificity of anti-citrullinated peptide antibodies discloses a heterogeneous antibody population in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol*. 2013; 174(1): 10–17, doi: [10.1111/cei.12145](https://doi.org/10.1111/cei.12145), indexed in Pubmed: [23711220](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23711220/).
28. Ioan-Facsinay A, Willemze A, Robinson DB, et al. Marked differences in fine specificity and isotype usage of the anti-citrullinated protein antibody in health and disease. *Arthritis Rheum*. 2008; 58(10): 3000–3008, doi: [10.1002/art.23763](https://doi.org/10.1002/art.23763), indexed in Pubmed: [18821680](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18821680/).
29. van der Woude D, Rantapää-Dahlqvist S, Ioan-Facsinay A, et al. Epitope spreading of the anti-citrullinated protein antibody response occurs before disease onset and is associated with the disease course of early arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2010; 69(8): 1554–1561, doi: [10.1136/ard.2009.124537](https://doi.org/10.1136/ard.2009.124537), indexed in Pubmed: [20448290](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20448290/).
30. Brink M, Hansson M, Mathsson L, et al. Multiplex analyses of antibodies against citrullinated peptides in individuals prior to development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2013; 65(4): 899–910, doi: [10.1002/art.37835](https://doi.org/10.1002/art.37835), indexed in Pubmed: [23310951](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23310951/).
31. Ménard HA. Anti-cyclic citrullinated peptide in preclinical rheumatoid arthritis. Food for thought. *J Rheumatol*. 2009; 36(4): 663–664, doi: [10.3899/jrheum.090184](https://doi.org/10.3899/jrheum.090184), indexed in Pubmed: [19342718](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19342718/).
32. van Beers JJ, Willemze A, Jansen JJ, et al. ACPA fine-specificity profiles in early rheumatoid arthritis patients do not correlate with clinical features at baseline or with disease progression. *Arthritis Res Ther*. 2013; 15(5): R140, doi: [10.1186/ar4322](https://doi.org/10.1186/ar4322), indexed in Pubmed: [24286543](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24286543/).
33. Willemze A, Böhringer S, Knevel R, et al. The ACPA recognition profile and subgrouping of ACPA-positive RA patients. *Ann Rheum Dis*. 2012; 71(2): 268–274, doi: [10.1136/annrheumdis-2011-200421](https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2011-200421), indexed in Pubmed: [21998120](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21998120/).

34. van Venrooij WJ, van Beers JJ, Pruijn GJM. Anti-CCP Antibody, a Marker for the Early Detection of Rheumatoid Arthritis. *Ann N Y Acad Sci.* 2008; 1143: 268–285, doi: [10.1196/annals.1443.013](#), indexed in Pubmed: [19076355](#).
35. van Venrooij WJ, van Beers JJ, Pruijn GJM. Anti-CCP antibodies: the past, the present and the future. *Nat Rev Rheumatol.* 2011; 7(7): 391–398, doi: [10.1038/nrrheum.2011.76](#), indexed in Pubmed: [21647203](#).
36. Payet J, Goulvestre C, Bialé L, et al. Anticyclic citrullinated peptide antibodies in rheumatoid and nonrheumatoid rheumatic disorders: experience with 1162 patients. *J Rheumatol.* 2014; 41(12): 2395–2402, doi: [10.3899/jrheum.131375](#), indexed in Pubmed: [25274898](#).
37. Vander Cruyssen B, Hoffman IEA, Zmierzak H, et al. Anti-citrullinated peptide antibodies may occur in patients with psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2005; 64(8): 1145–1149, doi: [10.1136/ard.2004.032177](#), indexed in Pubmed: [15695535](#).
38. Bogliolo L, Alpini C, Caporali R, et al. Antibodies to cyclic citrullinated peptides in psoriatic arthritis. *J Rheumatol.* 2005; 32(3): 511–515, indexed in Pubmed: [15742445](#).
39. Atzeni F, Sarzi-Puttini P, Lama N, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in primary Sjögren syndrome may be associated with non-erosive synovitis. *Arthritis Res Ther.* 2008; 10(3): R51, doi: [10.1186/ar2420](#), indexed in Pubmed: [18462485](#).
40. Payet J, Belkhir R, Gottenberg JE, et al. ACPA-positive primary Sjögren's syndrome: true primary or rheumatoid arthritis-associated Sjögren's syndrome? *RMD Open.* 2015; 1(1): e000066, doi: [10.1136/rmdopen-2015-000066](#), indexed in Pubmed: [26509066](#).
41. Wang Y, Pei F, Wang X, et al. Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody for juvenile idiopathic arthritis. *J Immunol Res.* 2015; 2015: 915276, doi: [10.1155/2015/915276](#), indexed in Pubmed: [25789331](#).
42. Lipinska J, Smolewska E, Brozik H, et al. Anti-CCP antibodies in children with juvenile idiopathic arthritis (JIA) - diagnostic and clinical significance. *Centr. Eur. J. Immunol.* 2008; 33(1): 19–23.
43. Popescu C, Zofotă S, Bojincă V, et al. The significance of rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in systemic lupus erythematosus. *Rom J Intern Med.* 2013; 51(3-4): 179–187, indexed in Pubmed: [24620631](#).
44. Kim JO, Lee JS, Choi JY, et al. The relationship between peripheral arthritis and anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in ankylosing spondylitis. *Joint Bone Spine.* 2013; 80(4): 399–401, doi: [10.1016/j.jbspin.2012.10.002](#), indexed in Pubmed: [23141717](#).
45. Labrador-Horrillo M, Martínez MaA, Selva-O'Callaghan A, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide and anti-keratin antibodies in patients with idiopathic inflammatory myopathy. *Rheumatology (Oxford).* 2009; 48(6): 676–679, doi: [10.1093/rheumatology/kep065](#), indexed in Pubmed: [19386818](#).
46. Gokhan A, Turkeyler IH, Babacan T, et al. The antibodies cyclic citrullinated peptides (anti-CCP) positivity could be a promising marker in brucellosis patients presented with peripheral arthritis. *Mod Rheumatol.* 2014; 24(1): 182–187, doi: [10.3109/14397595.2013.854053](#), indexed in Pubmed: [24261776](#).
47. Uyanik A, Albayrak F, Uyanik MH, et al. Antibodies directed to cyclic citrullinated peptides in familial Mediterranean fever. *Rheumatol Int.* 2010; 30(4): 467–471, doi: [10.1007/s00296-009-0993-5](#), indexed in Pubmed: [19533138](#).
48. Koga T, Migita K, Miyashita T, et al. Determination of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in the sera of patients with liver diseases. *Clin Exp Rheumatol.* 2008; 26(1): 121–124, indexed in Pubmed: [18328158](#).
49. Santiago M, Baron M, Miyachi K, et al. A comparison of the frequency of antibodies to cyclic citrullinated peptides using a third generation anti-CCP assay (CCP3) in systemic sclerosis, primary biliary cirrhosis and rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 2008; 27(1): 77–83, doi: [10.1007/s10067-007-0656-4](#), indexed in Pubmed: [17570008](#).
50. Fusconi M, Vannini A, Dall'Aglio AC, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in type 1 autoimmune hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005; 22(10): 951–955, doi: [10.1111/j.1365-2036.2005.02686.x](#), indexed in Pubmed: [16268969](#).
51. Dalkılıç E, Öksüz MF, Tufan AN, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide and rheumatoid factor in patients with chronic hepatitis B and hepatitis B carriers. *Eur J Rheumatol.* 2015; 2(2): 62–65, doi: [10.5152/eurjrheum.2015.0101](#), indexed in Pubmed: [27708928](#).
52. Cunha BM, Mota LM, Pileggi GS, et al. HIV/AIDS and rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev.* 2015; 14(5): 396–400, doi: [10.1016/j.autrev.2015.01.001](#), indexed in Pubmed: [25578483](#).
53. Kakumanu P, Yamagata H, Sobel ES, et al. Patients with pulmonary tuberculosis are frequently positive for anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, but their sera also react with unmodified arginine-containing peptide. *Arthritis Rheum.* 2008; 58(6): 1576–1581, doi: [10.1002/art.23514](#), indexed in Pubmed: [18512773](#).
54. Laustriat G, Ruysen-Witrand A, Constantin A, et al. Anti-citrullinated peptides antibodies in systemic sclerosis: Meta-analysis of frequency and meaning. *Joint Bone Spine.* 2018; 85(2): 147–153, doi: [10.1016/j.jbspin.2017.11.006](#), indexed in Pubmed: [29183860](#).
55. Iwaszkiewicz C, Puszczewicz M, Białkowska-Puszczewicz G. Diagnostic value of the anti-Sa antibody compared with the anti-cyclic citrullinated peptide antibody in rheumatoid arthritis. *Int. J. Rheum. Dis.* 2015; 18(1): 46–51, doi: [10.1111/1756-185X.12544](#), indexed in Pubmed: [25488711](#).
56. Dogan M, Kucuksarac S, Tufekci O. Comparison of the diagnostic values in rheumatoid arthritis: anti-CCP antibodies and other serological tests. *Biomedical Research.* 2014; 25(3): 381–386.
57. National Institute for Health and Care Excellence. Draft for consultation: rheumatoid arthritis in adults: management. 2018. [www.nice.org.uk/guidance/GID-NG10014/documents/draft-guideline](#).
58. Barra L, Pope J, Bessette L, et al. Lack of seroconversion of rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide in patients with early inflammatory arthritis: a systematic literature review. *Rheumatology (Oxford).* 2011; 50(2): 311–316, doi: [10.1093/rheumatology/keq190](#), indexed in Pubmed: [20621983](#).
59. Burr ML, Viatte S, Bukhari M, et al. Long-term stability of anti-cyclic citrullinated peptide antibody status in patients with early inflammatory polyarthritis. *Arthritis Res Ther.* 2012; 14(3): R109, doi: [10.1186/ar3834](#), indexed in Pubmed: [22571727](#).
60. Vos I, Van Mol C, Trouw LA, et al. Anti-citrullinated protein antibodies in the diagnosis of rheumatoid arthritis (RA): diagnostic performance of automated anti-CCP-2 and anti-CCP-3 antibodies assays. *Clin Rheumatol.* 2017; 36(7): 1211–1217, doi: [10.1007/s00395-017-0588-8](#), indexed in Pubmed: [28588888](#).

- 1487–1492, doi: [10.1007/s10067-017-3684-8](https://doi.org/10.1007/s10067-017-3684-8), indexed in Pubmed: [28578492](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28578492/).
61. Song JY, Li MX, Li S, et al. Diagnostic value of third generation anti-cyclic citrullinated peptide assay in rheumatoid factor negative rheumatoid arthritis. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2016; 9(10): 10728–10733.
62. Pruijn GJm, Wiik A, van Venrooij WJ. The use of citrullinated peptides and proteins for the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2010; 12(1): 203, doi: [10.1186/ar2903](https://doi.org/10.1186/ar2903), indexed in Pubmed: [20236483](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20236483/).
63. Li Y, Zhang R, Han Y, et al. Proficiency testing for the detection of anti-citrullinated protein antibody in China. *Clin Chim Acta.* 2015; 450: 67–71, doi: [10.1016/j.cca.2015.07.020](https://doi.org/10.1016/j.cca.2015.07.020), indexed in Pubmed: [26216186](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26216186/).
64. Singh Sangha M, Wright ML, Ciurtin C. Strongly positive anti-CCP antibodies in patients with sacroiliitis or reactive arthritis post-E. coli infection: A mini case-series based review. *Int J Rheum Dis.* 2018; 21(1): 315–321, doi: [10.1111/1756-185X.13113](https://doi.org/10.1111/1756-185X.13113), indexed in Pubmed: [28589668](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28589668/).

Cezary Iwaszkiewicz¹, Piotr Leszczyński^{1, 2}

¹Oddział Reumatologii i Osteoporozy, Szpital im. Józefa Strusia w Poznaniu

²Pracownia Chorób Metabolicznych Kości i Tkanki Łącznej, Katedra Reumatologii i Rehabilitacji, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Markery serologiczne w rozpoznawaniu reumatoidalnego zapalenia stawów — spojrzenie lekarza praktyka

Artykuł jest tłumaczeniem pracy: Cezarego Iwaszkiewicza i Piotra Leszczyńskiego Serological markers in the diagnosis of rheumatoid arthritis — a clinician's perspective. Forum Reumatol. 2018 tom 4, nr 3: 169–177.

Należy cytować wersję pierwotną.

Piśmiennictwo znajduje się na stronach 174–177.

STRESZCZENIE

W pracy podsumowano obecną wiedzę na temat roli autoprzeciwciał w rozpoznawaniu reumatoidalnego zapalenia stawów. Punktem wyjścia były aktualne kryteria klasyfikacyjne tej choroby. W pierwszej części pracy przedstawiono cechy diagnostyczne czynnika reumatoidalnego i autoprzeciwciał przeciw cytrulinowanym białkom lub peptydom, a w drugiej odpowiedziano na związane z nimi zasadnicze py-

tania kliniczne. Obecny artykuł, w przeciwieństwie do obszernych prac z zakresu immunologii, poświęcono problemom codziennej praktyki reumatologicznej.

Forum Reumatol. 2018, tom 4, nr 3: 178–183

Słowa kluczowe: reumatoidalne zapalenie stawów; autoprzeciwciała przeciw cytrulinowanym białkom; ACPA; autoprzeciwciała przeciw cyklicznemu cytrulinowanemu peptydowi; anty-CCP; aCCP; czynnik reumatoidalny; RF

WPROWADZENIE

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) jest najczęstszą układową chorobą tkanki łącznej, prowadzącą do postępującego uszkodzenia stawów i rozwoju zmian narządowych. Celem leczenia RZS jest osiągnięcie remisji jeszcze przed wystąpieniem nieodwracalnych zmian, co wymaga wczesnego rozpoznania choroby i włączenia leków modyfikujących jej przebieg. Z uwagi na heterogeny obraz kliniczny i podstępny początek RZS spełnienie tych warunków bywa wyzwaniem [1, 2].

Wsparciem w podejmowaniu decyzji klinicznych w reumatologii są badania laboratoryjne. Ułatwiają one rozpoznanie i ocenę aktywności wielu chorób, a niekiedy mają znaczenie prognostyczne lub predykcyjne. Mimo rozwoju diagnostyki laboratoryjnej, podstawą pozostają: morfologia krwi, wskaźniki zapalne i biochemiczne oraz badanie ogólne moczu. Testy sero-

logiczne są cennym narzędziem pomocniczym — ale tylko w rękach dobrze przygotowanego lekarza. W przeciwnym razie stają się źródłem nieporozumień, zbędnych wydatków i niepokoju pacjentów. Należy podkreślić, że samo wykrycie autoprzeciwciał nigdy nie przesądza o rozpoznaniu, a dobór badań powinien ściśle odpowiadać hipotezie klinicznej [3, 4].

Celem pracy było podsumowanie aktualnej wiedzy na temat roli markerów serologicznych w rozpoznawaniu RZS. Z uwagi na ograniczoną objętość tekstu, nie omawiano właściwości prognostycznych i predykcyjnych autoprzeciwciał. Będą one tematem przyszłego opracowania.

CZYNNIK REUMATOIDALNY (RF)

Najstarszym serologicznym markerem RZS jest **czynnik reumatoidalny** (RF, *rheumatoid factor*), czyli heterogenna grupa auto-

Adres do korespondencji:
dr hab. n. med. Piotr Leszczyński,
prof. UM
Katedra Reumatologii i Rehabilitacji
Uniwersytetu Medycznego im. Karola
Marcinkowskiego w Poznaniu
e-mail: piotr_leszczyński@wp.pl

przeciwiał przeciw fragmentowi Fc ludzkich immunoglobulin klasy G [5]. Rodzina RF obejmuje wszystkie izotypy, lecz szerokie zastosowanie znalazł tylko RF IgM i to jemu poświęcono poniższe rozważania [6]. Do 2010 roku RF był jedynym autoprzeciwciałem uwzględnianym w kryteriach klasyfikacyjnych RZS [7]. Jego czułość diagnostyczna w zaawansowanym okresie choroby wynosi 85%. W pozostałych 15% przypadków mówi się o tak zwanej **postaci seronegatywnej**, choć pojęcie to — w świetle nowych odkryć autoprzeciwciał — traci obecnie na znaczeniu [8, 9]. Synteza RF może poprzedzać objawy RZS nawet o 11 lat, a odsetek wyników RF-pozytywnych w okresie przedklinicznym ocenia się na 19–57% [10–13]. W tych przypadkach mediana czasu między stwierdzeniem serokonwersji a zachorowaniem wynosi od 2 do 4 lat [11–13]. W **bardzo wczesnym** okresie RZS, czyli poniżej 3 miesięcy od początku objawów, wynik RF-pozytywny stwierdza się u 45% chorych [14]. Jeszcze do 3 lat od zachorowania czułość diagnostyczna markera nie przekracza 63% [15]. Decyzje terapeutyczne podejmowane na początku choroby warunkują jej dalszy przebieg i skuteczność leczenia, stąd rola RF jako markera RZS jest mocno ograniczona [2]. Drugim ograniczeniem jest jego niska i wybitnie zależna od populacji badanej swoistość diagnostyczna. Parametr ten waha się w szerokim zakresie 31–99%, co oddaje powszechną, a zarazem zróżnicowaną, obecność RF w chorobach reumatycznych, infekcyjnych, nowotworowych i innych [16]. Wyniki RF-pozytywne stwierdza się także u osób zdrowych, a częstość tego zjawiska rośnie z wiekiem. Występowanie RF w różnych grupach klinicznych podsumowano w tabeli 1.

AUTOPRZECIWCIAŁA PRZECIW CYTRULINOWANYM BIAŁKOM LUB PEPTYDOM (ACPA)

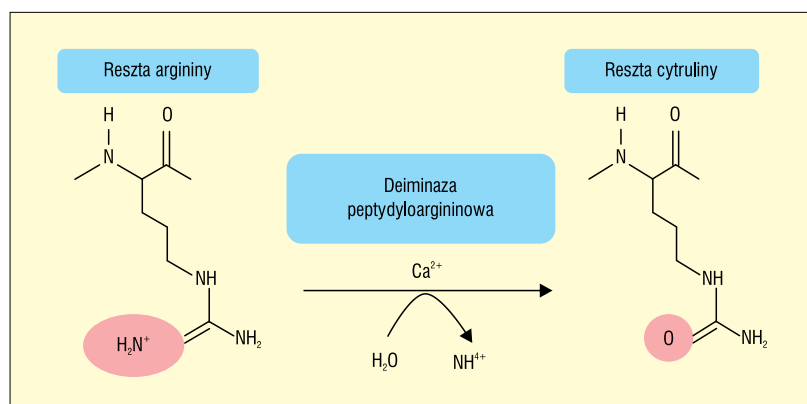
Nowszym markerem RZS są **autoprzeciwciała przeciw cytrulinowanym białkom lub peptydom** (ACPA, *anti-citrullinated protein/peptide antibodies*). Cytrulinacja jest modyfikacją posttranslacyjną białek lub peptydów, polegająca na deiminacji reszt argininy z wytworzeniem reszt cytruliny (ryc. 1). Katalizują ją enzym, deiminaza peptydyloargininowa (PAD, *peptidylarginine deiminase*), znajduje się we wnętrzu rozmaitych komórek. Aktywacja PAD wymaga 100-krotnego wzrostu stężenia jonów Ca^{2+} . Takie przesunięcia — poprzez napływ jonów Ca^{2+} spoza komórki oraz ich

Tabela 1. Obecność RF w różnych grupach klinicznych [17–22]

| Populacja | Odsetek (%) |
|---|-------------|
| Osoby zdrowe | |
| Wiek 70 lat | 10–25 |
| Wiek 50 lat | 5 |
| Wiek < 50 lat | ≤ 4 |
| Choroby układowe tkanki łącznej | |
| Reumatoidalne zapalenie stawów | 70–90 |
| Zespół Sjögrena | 75–95 |
| Mieszana choroba tkanki łącznej | 50–60 |
| Układowe zapalenie naczyń związane z ANCA | 26–62 |
| Twardzina układowa | 20–30 |
| Toczeń rumieniowaty układowy | 15–35 |
| Zapalenie wielomięśniowe/skórno-mięśniowe | 20 |
| Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów | 5 |
| Spondyloartropatie | |
| Łuszczycowe zapalenie stawów | 5–13 |
| Reaktywne zapalenie stawów | < 5 |
| Zakażenia bakteryjne | |
| Podostre zapalenie wsierdza | 40 |
| Gruźlica | 15–62 |
| Kiła | 8–37 |
| Zakażenia wirusowe | |
| HCV | 10–76 |
| HBV | 18–43 |
| Herpes | 10–15 |
| HIV | 10–20 |
| Choroby pasożytnicze | |
| Malaria | 15–18 |
| Toksoplazmoza | 10–12 |
| Inne | |
| Mieszana krioglobulinemia typu II* | 100 |
| Sarkoidoza | 5–30 |
| Pierwotna marskość żółciowa wątroby | 45–70 |
| Marskość wątroby – różna etiologia | 25 |
| Nowotwory | 5–25 |

*Monoklonalne IgM o aktywności czynnika reumatoidalnego; ANCA (antineutrophil cytoplasmic antibody) — autoprzeciwciała przeciw cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych; HCV (hepatitis C virus) — wirus zapalenia wątroby typu C; HBV (hepatitis B virus) — wirus zapalenia wątroby typu B; HIV (human immunodeficiency virus) — ludzki wirus niedoboru odporności

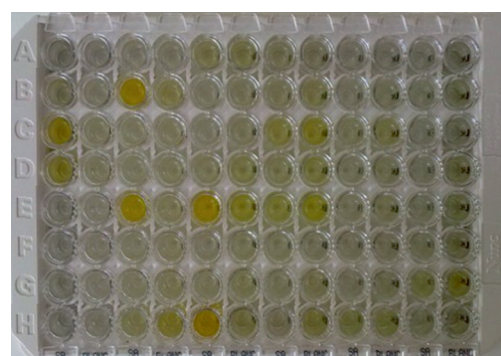
wyływ z magazynów wewnątrzkomórkowych — towarzyszą procesom apoptozy i nekrozy. Nagła śmierć dużej liczby komórek utrudnia bieżącą fagocytozę ich fragmentów. W efekcie może dochodzić do aktywacji PAD i cytrulina-



Rycina 1. Reakcja cytrulinacji — utrata ładunku dodatniego wpływa na oddziaływania wewnątrz- i zewnątrzcząsteczkowe, nadając białkom nowe właściwości antygenowe.

cji białek lub peptydów zasobnych w arginę. Scenariusz ten wykazano w różnych tkankach zmienionych zapalnie — i to niezależnie od czynnika uszkadzającego. Skoro obecność cytrulinowanych białek jest zjawiskiem powszechnym, swoistość ACPA wobec RZS nie wynika z samej cytrulinacji, lecz ze skłonności chorych do syntezy autoprzeciwciał przeciw cytrulinowanym białkom. Skłonność ta ma być wypadkową indywidualnych czynników genetycznych i środowiskowych [23]. Oczywiście synteza ACPA, czy innych autoprzeciwciał, również nie wystarcza do zachorowania. Większość osób wytwarzających autoprzeciwciała nie choruje na związane z nimi choroby [24].

Oceny ACPA dokonuje się zwykle za pomocą testów immunoenzymatycznych z cyklicznym cytrulinowanym peptydem (CCP, *anti-cyclic citrullinated peptide autoantibodies*) w roli antygeny (ryc. 2). Te syntetyczne cząsteczki, dzięki licznym i dobrze wyeksponowanym resztom cytruliny, pozwalają na „wychwycenie” ACPA z materiału badanego. Od metody laboratoryjnej pochodzi termin **autoprzeciwciała przeciw cyklicznemu cytrulinowanemu peptydowi** (anty-CCP). Należy podkreślić, że antygen CCP nie występuje *in vivo*, a oparte na nim testy służą do łącznej oceny repertuaru ACPA obecnego w próbce badanej [25]. Przeciwciała te rozpoznają konkretne cytrulinowane białka lub peptydy, choć mogą wykazywać różnego stopnia reaktywność krzyżową. W efekcie każdy chory z wynikiem anty-CCP-pozytywnym posiada indywidualny zestaw swoistości antygenowych ACPA, zwany **profilem ACPA** [26, 27]. Lista cytrulinowanych antygenów o możliwej roli w patogenezie RZS stale się wydłuża. Do lepiej poznanych należą: fibryna, wimentyna, fibronektyna, α -enolaza, kolagen typu I i II, histony oraz jądrowy an-



Rycina 2. Mikrotytka do oznaczania przeciwciał metodą immunoenzymatyczną (ELISA)

tygen 1 wirusa Epsteina-Barr [23]. Zgodnie z obecną wiedzą odpowiedź „przeciwcitrulinowa” dojrzewa w zakresie swoistości antygenowej i liczby klas immunoglobulin w fazie przedklinicznej, po czym utrwała się wraz z zachorowaniem na RZS [28–30]. Innymi słowy, profile ACPA chorych na RZS są względnie konserwatywne. Pewna analogia do rodziny autoprzeciwciał przeciwdrobnoustrojowych (ANA, *antinuclear antibodies*) zainspirowała hipotezę, że profil ACPA może zawierać informacje o istotnym znaczeniu klinicznym. Jej zwolennicy porównywali rolę testu anty-CCP do roli oceny ANA metodą immunofluorescencji, a badanie przeciwciał przeciw konkretnym cytrulinowanym białkom do oceny profilu ANA [31]. Mimo kilku lat badań wciąż brak dowodów, by znajomość osobniczego profilu ACPA niosła jakiegokolwiek korzyści kliniczne [32, 33].

Jak wspomniano, test anty-CCP umożliwia łączną ocenę zbioru ACPA obecnego w próbce badanej i jako taki jest miarą nasilenia odpowiedzi autoimmunologicznej przeciw cytrulinowanym antygenom. Czulość diagnostyczna autoprzeciwciał anty-CCP wynosi

Tabela 2. Obecność autoprzeciwciał anti-CCP w różnych grupach klinicznych [19, 22, 35–54]

| Populacja | Odsetek (%) |
|---|-------------|
| Osoby zdrowe | 1 |
| Choroby reumatyczne inne niż RZS | 6 |
| Choroby układowe tkanki łącznej | |
| Reumatoidalne zapalenie stawów | 62–75 |
| Zespół Sjögrena | 5–10 |
| Mieszana choroba tkanki łącznej | 11–16 |
| Twardzina układowa | 9 |
| Toczeń rumieniowaty układowy | 7–17 |
| Zapalenie wielomięśniowe/ skórno-mięśniowe | 13 |
| Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów | 2–42 (10)* |
| Spondyloartropatie | |
| Łuszczycowe zapalenie stawów | 8–16 |
| Zesztywniające zapalenie stawów kręgosłupa | 4 |
| Zakażenia bakteryjne | |
| Gruźlica płuc | 32–37 |
| Zakażenia wirusowe | |
| HCV | 0–33 |
| HBV | 0–20 |
| HIV | 8–15 |
| Choroby wątroby | |
| Pierwotna marskość żółciowa | 3–6 |
| Autoimmunologiczne zapalenie wątroby | 9–10 |
| Inne | |
| Rodzinna gorączka śródziemnomorska | 14 |
| Brucelloza z zajęciem stawów | 20 |

*Szeroki zakres wyników odzwierciedla heterogenność kliniczną i laboratoryjną MIZS. W nawiasie podano wartość z jedynej dostępnej metaanalizy [42]; HCV (hepatitis C virus) — wirus zapalenia wątroby typu C; HBV (hepatitis B virus) — wirus zapalenia wątroby typu B; HIV (human immunodeficiency virus) — ludzki wirus niedoboru odporności

72%, a dokładniej — 75% w zaawansowanym okresie RZS i 62% w okresie wczesnym. Granicę między nimi ustalano arbitralnie, zwykle na 12 lub 24 miesiące od początku objawów. W bardzo wczesnym okresie RZS wynik anti-CCP-pozytywny dotyczy tylko 41% chorych [14]. Główną zaletą autoprzeciwciał anti-CCP jest ich wysoka swoistość diagnostyczna, wynosząca 99% względem osób zdrowych i 94% względem chorych na inne (niż RZS) choroby reumatyczne [34, 35]. Znaczy to, że odsetek wyników anti-CCP-pozytywnych u osób zdrowych wynosi 1%, a u osób z chorobami „przypominającymi” RZS jest on nieco wyższy i wynosi 6%. W tabeli 2 podsumowano rozkład

wyników anti-CCP-pozytywnych w różnych grupach klinicznych. Synteza ACPA może poprzedzać RZS nawet o 14 lat, czyli nieco więcej niż w przypadku RF, a odsetek wyników anti-CCP-pozytywnych w okresie przedklinicznym waha się między 34% a 61% [10–13]. W tych przypadkach mediana czasu między stwierdzeniem serokonwersji a zachorowaniem wynosi od 3 do 5 lat [11–13].

Obok testu anti-CCP istnieją zestawy badawcze do oceny autoprzeciwciał przeciw konkretnym cytrulinowanym białkom. Duże nadzieje wiązano z przeciwciałami przeciw cytrulinowanej wimentynie, zwanej autoantygenu Sa [31]. W pierwszym i jak dotąd jedynym badaniu polskim nie stwierdzono korzyści z włączenia autoprzeciwciał anti-Sa do diagnostyki RZS [55]. Osobną kwestią pozostają właściwości prognostyczne i predykcyjne markera.

KRYTERIA KLASYFIKACYJNE RZS

W 2010 roku wspólnym wysiłkiem Amerykańskiego Kolegium Reumatologicznego (ACR, *American College of Rheumatology*) i Europejskiej Ligi Przeciwrheumatycznej (EULAR, *European League Against Rheumatism*) ogłoszono nowe kryteria klasyfikacyjne RZS [7]. Zastąpiły one 23-letnie kryteria amerykańskie, wykazujące niższą czułość we wczesnym okresie choroby. Można powiedzieć, że obecny algorytm skoncentrowano wokół tych cech wczesnego zapalenia stawów, które predysponują do rozwoju pełnoobjawowego RZS. Kryteria oparto na czterech zmiennych, zwanych **kategoriami** (tab. 3). Są to: liczba i wielkość zajętych stawów, wyniki markerów serologicznych, wyniki wskaźników zapalnych oraz czas od wystąpienia pierwszych objawów. W dokumencie uwzględniono dwa markery serologiczne — RF i ACPA, nie wyróżniając żadnego z nich. Wartości autoprzeciwciał interpretuje się względem górnej granicy zakresu referencyjnego dla danego laboratorium i metody (ULN, *upper limit of normal*). **Wynik negatywny** to taki, który nie przekracza ULN, **wynik pozytywny niski** jest mniejszy lub równy 3-krotności ULN, a **wynik pozytywny wysoki** przekracza 3-krotność ULN. Jeśli do oceny RF użyto metody jakościowej, to każdy wynik pozytywny traktuje się jako pozytywny niski. Autorzy nie zajęli stanowiska, jaką metodę do oceny ACPA należałoby stosować, choć stwierdzili, że typowo używany jest test anti-CCP. Warto zauważyć, że autoprzeciwciała są drugą najwyżej ocenianą kategorią — tuż po zajęciu stawów.

Tabela 3. Kryteria klasyfikacyjne RZS według ACR/EULAR z 2010 roku [7]

| | |
|---|---|
| Warunek wstępny: stwierdzenie jawnego klinicznego zapalenia błony maziowej w co najmniej jednym stawie (obrzęk) — przy wykluczeniu innych możliwych jego przyczyn Diagnostyka różnicowa pozostaje odpowiedzialnością lekarza | |
| Należy zsumować punkty z kategorii A–D. Wymagane jest minimum 6 pkt., by sklasyfikować przypadek kliniczny jako pewne RZS | |
| Przypadki długotrwałe (niezależnie od aktywności lub leczenia) oraz przypadki z obecnością typowych nadżerek klasyfikuje się jako pewne RZS, jeśli na podstawie historii choroby spełniały one kryteria w przeszłości | |
| A. Liczba i wielkość zajętych stawów: | |
| 1 duży staw | 0 |
| 2–10 dużych stawów | 1 |
| 1–3 małych stawów (z zajęciem dużych stawów lub bez) | 2 |
| 4–10 małych stawów (z zajęciem dużych stawów lub bez) | 3 |
| > 10 stawów (w tym przynajmniej 1 mały staw) | 5 |
| B. Markery serologiczne (konieczny wynik co najmniej jednego z nich): | |
| Negatywny wynik RF i ACPA | 0 |
| Pozytywny niski wynik RF lub ACPA | 2 |
| Pozytywny wysoki wynik RF lub ACPA | 3 |
| C. Wskaźniki zapalne (konieczny wynik co najmniej jednego z nich): | |
| Prawidłowe stężenie CRP i wartość OB | 0 |
| Nieprawidłowe stężenie CRP lub wartość OB | 1 |
| D. Czas trwania objawów | |
| < 6 tygodni | 0 |
| ≥ 6 tygodni | 1 |

ACPA (*anti-citrullinated protein/peptide antibodies*) — autoprzeciwciała przeciw cytrulinowanym białkom lub peptydom; ACR (*American College of Rheumatology*) — Amerykańskie Kolegium Reumatologiczne; CRP (*C-reactive protein*) — białko C-reaktywne; OB — odczyn Biernackiego; RF (*rheumatoid factor*) — czynnik reumatoidalny; EULAR (*European League Against Rheumatism*) — Europejska Liga Przeciwrheumatyczna; RZS — reumatoidalne zapalenie stawów

JAKI ODSETEK OSÓB ANTY-CCP-POZYTYWNYCH RZECZYWIŚCIE CHOROJĘ NA RZS?

Odpowiedzią jest dodatnia wartość predykcijna testu, wynosząca 93–97%. Niestety, jak wspomniano, u jednej trzeciej chorych na RZS nie uzyska się wyniku pozytywnego [56].

RF I ACPA — BADAĆ ŁĄCZNIE CZY MOŻE WYBRAĆ JEDEN?

Według kryteriów ACR/EULAR wystarczy zbadać jedno z wymienionych autoprzeciwciał, a oba markery uznano za alternatywne. Wskazówką może być opinia autorów, że u osób RF-pozytywnych ocena anty-CCP nie wniesie żadnej dodatkowej informacji — oczywiście w aspekcie sklasyfikowania choroby jako RZS [7]. Z kolei w projekcie nowych wytycznych brytyjskiego Narodowego Instytutu Zdrowia (NICE, *National Institute for Health and Care Excellence*) zawarto bezpośrednie zalecenie, by najpierw oznaczyć RF,

a w przypadku wyniku negatywnego rozważyć oznaczenie anty-CCP. Konieczność oceny anty-CCP podkreślono natomiast u wszystkich chorych z nowo rozpoznany RZS. Wynika to z właściwości prognostycznych i predykcyjnych markera — nieistotnych dla samego rozpoznania, ale kluczowych dla dalszej opieki nad pacjentem [57]. Uwzględniając obecne dane i specyfikę warunków polskich, w przypadkach klinicznego podejrzenia RZS zdecydowanie warto prowadzić łączną ocenę RF i anty-CCP. Jeśli istnieje konieczność wyboru jednego z nich, to prawdopodobnie lepiej zacząć od RF — jako markera o wyższej czułości diagnostycznej i niższej cenie. Rozpoznanie RZS obliuguje jednak do niezwłocznego oznaczenia anty-CCP.

RF I ACPA — CZY POWTARZAĆ PRZY WYNIKACH NEGATYWNYCH?

Pozostając w temacie diagnostyki RZS, mówimy tu *de facto* o chorych na nieodróżniane zapalenie stawów. W tej grupie odsetek

wyników anty-CCP-negatywnych z późniejszą serokonwersją do wartości pozytywnej wynosi 1,3–8,9%, a wśród wyników RF-negatywnych odsetek serokonwersji wynosi 1,9–10,0%. Obserwacje te prowadzono przez okres do 5 lat. Przytoczone dane są efektem osobnego spojrzenia na każdy z markerów, bez względu na ich współwystępowanie. Tymczasem udowodniono, że czynnikiem ryzyka zmiany wyniku RF-negatywnego na pozytywny jest wyjściowa obecność anty-CCP, a czynnikiem ryzyka zmiany wyniku anty-CCP-negatywnego na pozytywny jest wyjściowa obecność RF. Być może dlatego w grupie podwójnie seronegatywnej — stanowiącej właściwy problem diagnostyczny — odsetek serokonwersji do wyniku anty-CCP-pozytywnego wynosi już tylko 1,5%, a do wyniku RF-pozytywnego — 6,7%. Zgodnie z obecnym stanem wiedzy, wśród chorych na nieodróżniane zapalenie stawów z negatywnymi wynikami RF i/lub anty-CCP rutynowe powtarzanie tych oznaczeń nie jest uzasadnione [58, 59].

CZY GENERACJA TESTU ANTY-CCP MA ZNACZENIE?

Zależnie od budowy CCP wyróżnia się trzy generacje testów do oceny autoprzeciwciał anty-CCP. W pierwszej generacji cząsteczki CCP1 wzorowano na strukturze filagryny. W drugiej użyto bardziej złożonych, syntetycznych CCP2. Cząsteczki te zaprojektowano, łącząc miliony peptydów z surowicami chorych na RZS, co ujawniło epitopy o istotnym znaczeniu klinicznym. Tym sposobem zwiększono czułość diagnostyczną markera bez wpływu na jego swoistość. Najnowszy test — trzeciej generacji — zawiera peptydy CCP3, które otrzymano metodami biochemii kombinatorycznej celem lepszej ekspozycji epitopów. Do tej pory większość prac nie potwierdziła przewagi testu CCP3 nad CCP2. Test CCP2 pozostaje najczęściej stosowaną i najbardziej sprawdzoną techniką oceny ACPA, stąd wszystkie dane zawarte w niniejszej pracy dotyczą tego właśnie testu [60–62].

CZY WPLYW PRACOWNI LUB PRODUCENTA TESTU NA WYNIK ANTY-CCP MOŻE BYĆ ISTOTNY?

Choć standaryzacja oznaczeń anty-CCP jest zdecydowanie lepsza niż w przypadku RF, to wyniki uzyskane w różnych testach lub pracowniach mogą różnić się istotnie. Głównymi czynnikami wpływającymi na wynik testu serologicznego są: ogólna technika analityczna (jej rodzaj i stopień automatyzacji), skład i jakość odczynników, budowa i właściwości antygenu wiążącego, warunki fizyczne otoczenia, przyjęta wartość ULN oraz poprawność samego wykonania. Udokumentowano sytuacje, w których zgodność analityczna dwóch różnych testów CCP2 wynosiła jedynie 60% [23, 62, 63].

CZY WYNIK ANTY-CCP WYSOKO POZYTYWNY JEST PATOGNOMONICZNY DLA RZS?

Wyższa wartość anty-CCP zmniejsza ryzyko wyniku fałszywie pozytywnego, lecz nie eliminuje go całkowicie. Wyniki wysoko pozytywne stwierdzano w przebiegu rozmaitych chorób, w tym na przykład gruźlicy, autoimmunologicznego zapalenia wątroby czy spondyloartropatii. Ich znaczenie pozostaje niejasne [19, 48, 64]. Jest to główny powód, dla którego testy serologiczne powinny być zlecane indywidualnie, na podstawie wywiadu i badania przedmiotowego, a ich wyniki pozytywne — nawet w wysokim mianie — nie są patognomoniczne dla RZS. **Z perspektywy reumatologa pacjent nie choruje na wyniki badań, lecz na chorobę — definiowaną jako określony obraz kliniczny.**

PODSUMOWANIE

Markery serologiczne są cennym wsparciem w diagnostyce różnicowej zapaleń stawów, w tym przede wszystkim RZS. Świadomość ich podstawowych cech i jednocześnie wielu ograniczeń może nie tylko ułatwić i przyspieszyć prawidłowe rozpoznanie, ale także znacząco zmniejszyć nadrozpoznowalność RZS. Oba aspekty mają kluczowy wpływ na bezpieczeństwo i jakość życia naszych pacjentów.